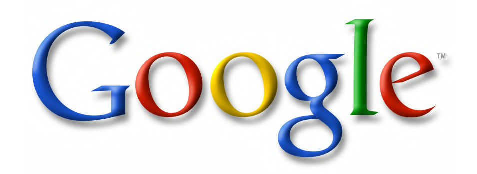

Google



1904



Versuche

über die

Virulenzschwankungen von Streptokokkus equi

mit Berücksichtigung des

Alkalescenzgehalts seines Nährbodens.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

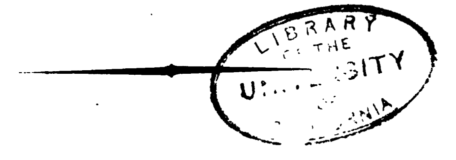
philosophischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Philipp Rahtjen

aus **Bremerhaven.**



Rostock 1904.

Universitätsbuchdruckerei von Adlers Erben, G. m. b. H.

Referent:

Dr. W. von Wasielewski.



Im November 1902 hatte ich Gelegenheit, Versuche mit Kulturen von Streptokokkus equi anzustellen, deren Ziel es war, Gründe für die ab- und zunehmende Virulenz derselben zu finden, und ich erhielt dabei zum Teil sehr überraschende Resultate, die ich geneigt bin, in erster Linie dem Alkalescenzgrade der verschiedenen Bouillon-Kulturen zuzuschreiben.

Im folgenden versuche ich darzustellen, wie ich die verschiedenen anfangs sehr schwach virulenten Kulturen von Streptokokkus equi zu einem äusserst hohen Grade der Virulenz brachte, wie ich diese Virulenz durch Veränderung der Alkalescenz auf einer stetigen Höhe erhalten konnte, bezw. sie nach Belieben variieren konnte, und wie ich schliesslich durch Injektion von Druseserum grösseren oder kleineren Heilerfolg hatte, dessen Variabilität ich wiederum dem Alkalescenzgrade der vorher injizierten Kultur zuschreiben möchte.

Vorausschicken will ich, dass die Tierversuche zum grössten Teil an weissen Mäusen gemacht wurden; jedoch versuchte ich ausser Kaninchen und

Meerschweinchen auch Fischen — Schellfisch, Aal, Barsch — Streptokokken-Kulturen beizubringen.

Im Ganzen machte ich 99 Injektionen an

51 Mäusen,
2 Kaninchen,
2 Meerschweinchen,
5 Schellfischen,
5 Aalen,
3 Barschen

in der Zeit vom November 1902 bis August 1903.

In der Hauptsache machte ich meine Versuche in dem Bakteriologischen Institut von Dr. Piorkowski-Berlin, während ich die Experimente an Fischen an der königlichen Biologischen Anstalt in Helgoland unternahm.

Ich bin deshalb sowohl dem Leiter der Anstalt auf Helgoland, Herrn Professor Dr. Heincke wie dem Herrn Dr. Piorkowski zu grossem Danke verpflichtet.

Bevor ich auf den experimentellen Teil dieser Abhandlung näher eingehe, erscheint es mir nötig an der Hand der zahlreich erschienenen und sich oft widersprechenden Literatur die Frage zu erörtern, ob auf Grund der Unität der verschiedenen Streptokokken Schlüsse zu ziehen sind, die berechtigten, meine Resultate auf dem Gebiet der Virulenzschwankungen auch auf die übrigen Kettenkokken auszudehnen.

In seiner Abhandlung „Zur Einheit der Streptokokken" sagt Fritz Meyer, dass die Resultate der Untersuchungen darauf hinweisen, mit der Unität der verschiedenen Streptokokken zurückzuhalten und vor allem die pyogenen menschlichen Arten von den Formen vieler Anginen (Scharlach und Gelenkrheumatismus) und den tierischen Streptokokken zu trennen.

Das Bouillonwachstum, ob trübe oder klar mit gleichzeitiger Berücksichtigung des Bodensatzes fand Behring von wesentlicher Bedeutung und konnte so den Streptokokkus longus und brevis als different von einander trennen.

Lingelsheim behauptet, dass derjenige Stamm, der unter günstigen Bedingungen des Wachstums kurzkettig ist, keine Virulenz entwickelt, während die zu langen Ketten auswachsende Art hohe Malignität erreichen kann; dementgegen unterscheidet Kurth kurze saprophytische, lange nicht virulente nnd kurze virulente Ketten.

Marmorek beschäftigte sich mit dem Filtratwachstum der verschiedenen Streptokokken. Die Eigenschaft der Unfruchtbarkeit eines Streptokokkenfiltrates gegenüber anderen Stämmen, neben der Virulenzerhöhung, der Hämolysinbildung und der Gleichheit der Toxine betrachtet er als charakteristische Merkmale der bekannten Arten. Unter diesem Gesichtspunkte fand er durchgreifende Unterschiede nur zwischen den menschlichen Stämmen und der Druse des Pferdes andrerseits.

So schliesse ich mich denn auch der Ansicht Meyers an, dass von einer Einheit der Streptokokken nicht die Rede sein kann, und es muss auch dahin gestellt bleiben, ob die Virulenzschwankungen, die ich bei den Drusestreptokokken ein wenig regulieren konnte, durch die gleiche Behandlungsweise auch bei den übrigen Streptokokkenstämmen beeinflusst werden.

Was nun die Virulenz anbetrifft, so begegnen wir hier ebenfalls mannigfachen Meinungen in der Literatur, und besonders die Frage über die Schwankungen der Virulenz ist in oft sich widersprechender Weise behandelt worden.

Nach R o u x verstehen wir unter Virulenz die Fähigkeit der Mikroorganismen, sich innerhalb des animalischen Körpers zu entwickeln und daselbst toxische Substanzen zu sezernieren.

P a s t e u r warf zuerst die Frage auf, ob man obligate Saprophyten in pathogene verwandeln könne und hat sie in bejahendem Sinne beantwortet, und N i c o l l e meint, dass es auch möglich sei, obligate Parasiten in Saprophyten zu verwandeln, wenn es auch bei vielen bekannten und unbekannten Arten noch nicht gelungen sei; man müsse eben zu dem Zweck die verschiedensten Nährböden und die vollkommensten Methoden zur Angewöhnung versuchen. Die Fähigkeit der Mikroorganismen, toxische Substanzen zu bilden, genügt nicht für den Begriff der Virulenz, denn viele Mikroorganismen, die Gifte erzeugen, sind nicht imstande im Tierkörper fortzukommen, wie zum Beispiel der Bacillus botulinus (N i c o l l e).

Da nachweisbar viele Tiere gewissen pathogenen Bakterien gegenüber immun sind, so muss man, wenn man diese Widerstandsfähigkeit überwinden will, ebenso verfahren, wie wenn man unschädliche Bakterien in virulente verwandeln will und N i c o l l e meint, dass pathogene Organismen, die als Saprophyten leben können, schliesslich immer einmal die Fähigkeit zu parasitärem Dasein verlieren.

Die Veränderungen in der Virulenz sind vierfacher Art: sie kann gesteigert, abgeschwächt, qualitativ verändert und konserviert werden.

In natürlicher Weise zeigt sich das Phänomen der Steigerung der Virulenz bei Epidemien, während es im Laboratorium soviel bedeutet, als einen bereits an eine Tierspezies angepassten Mikroorganismus dazu zu zwingen, sich noch besser anzupassen (Nicolle). Wenn man die Quantität der inokulierten Parasiten passend abmisst, so kann man durch successive Passagen ihre Bösartigkeit steigern: es tötet beispielsweise eine Streptokokken-Kultur, von der vorher nur 1 ccm tötlich war, später in der Dosis von 0,000 000 000 01 ccm (Marmorek). Die künstliche Virulenz ist eine Eigenschaft, die Marmorek allen Streptokokken gemeinsam zuerteilt; die dafür gebräuchlichen Methoden sind Nährbodenverbesserung, Tierpassage, Kollodiumsackkultur und Peritonealinfektion nach vorhergegangener Milchsäureeinspritzung.

Eine Gleichheit der Virulenz, meint Petruschky, könne nur durch tägliche Übertragungen auf neue Nährböden einigermassen gesichert werden, während Marmorek dasselbe Ziel erst durch Verwendung der Serum- oder Ascites-Brühe erreichte. Nicolle sagt, man könne von einer Virulenz eines Streptokokken an sich nicht sprechen; man müsse unbedingt die Tierspezies hinzufügen.

Widal und Besançon verimpften Kulturen ihrer Streptokokken gemeinsam mit Bacterium coli oder Bacillus prodigiosus; aus den so getöteten Tieren konnten dann virulente Streptokokken herausgezüchtet werden.

Arloing und Chantre glauben sogar, dass es sich bei den Erysipelkokken und den Kokken der Phlegmone und des Puerperalfiebers lediglich um verschiedene Virulenzgrade einer und derselben Form handle.

Über die Abschwächung der Virulenz ist zu bemerken, dass hier eine grosse Variabilität in bezug auf die Arten der Bakterien nachzuweisen ist; so verlieren die Streptokokken sehr rasch ihre Virulenz, während beispielsweise Schweinerotlaufbazillen sie vorzüglich behalten. Dabei ist zu beobachten, dass solche, deren Virulenz sich nur schwer steigern lässt, den gewöhnlichen Grad derselben um so energischer festhalten (Staphylokokken), während diejenigen, bei denen eine Steigerung leicht zu erreichen ist, dafür auch um so rascher auf künstlichen Nährböden abgeschwächt werden.

Dass Erwärmung abschwächend wirken kann, hat schon Toussaint 1880 konstatiert.

Nach der Pasteur'schen Methode der Abschwächung züchtet man die Bazillen der Hühnercholera und des Schweinerotlaufs bei 35—37° unter reichlicher Luftzufuhr. Nimmt man nun von einem gewissen Zeitpunkt ab jeden Tag eine Spur von jener Kultur und legt damit neue Kulturen an unter gewöhnlichen Bedingungen, so erhält man so eine ganze Staffel von abnehmenden Virulenzgraden. Diese Methode ist auch für Milzbrandbazillen mit einer kleinen Abänderung anwendbar.

Auch ausgetrocknete Mikroorganismen verlieren bald mehr oder weniger ihre Virulenz.

Arloing und Chauveau verwandten Licht, Druck und komprimierten Sauerstoff zur Darstellung von Milzbrandvaccinen.

Zu starke Acidität oder Alkalescenz, mögen sie von vornherein bestanden haben oder sich erst durch Wachstum der Mikroorganismen ausgebildet haben, setzen die Virulenz herunter und können nach mehreren Passagen sogar eine bleibende Abschwächung erzeugen (Nicolle).

Manfredi fand, dass Milzbrandbazillen in Nährböden, die $^1/_8$—$^2/_8$ des Volumens an Fetten enthalten, rasch alle Aktivität verlieren.

Durch Zusatz von Antisepticis zu den Nährböden, schwächten Roux und Chamberland Milzbrandbakterien ab. (Phenol 1:600 bis 1:1200; Kaliumbichromat 1:200 bis 1:1500).

Was nun die qualitative Veränderung der Virulenz anbetrifft, so ist vielfach beobachtet, dass der Bazillus des Schweinerotlaufs nach mehrfacher Passage durch ein Kaninchen weniger virulent für das Schwein wird, und dass das Wutgift schwächer wird, wenn man es mehrmals durch Affen schickt (Pasteur). Für Kaninchen supervirulente Streptokokken sind für den Menschen ungefährlich (Koch und Petruschky.)

Nocard züchtete den Erreger der menschlichen Tuberkulose in Kollodiumsäckchen im Peritoneum von jungen Hühnern: nach 3 Passagen von je 4 Monaten erlangte derselbe die Charaktere des Bazillus der Geflügeltuberkulose.

Endlich wäre noch bezüglich der Konservierung der Virulenz zu sagen, dass nach Nicolle als wirklich zuverlässiges Mittel nur genügend oft wiederholte Passagen anzusehen sind. Jedenfalls seien zu vermeiden: Hitze, Licht, Luft, zu hohe Aciditäts- oder Alkalescenzgrade; feste Nährböden seien dafür besser als serumhaltige Flüssigkeiten.

Den Einfluss der Nährlösungen auf die Virulenz zeigt recht deutlich eine Beobachtung von Marmorek bezüglich der Streptokokken, deren Virulenz bei folgenden Zusammensetzungen progressiv abnimmt:

1.	Menschliches Serum	2 Teile
	Bouillon	1 Teil
2.	Eselserum	2 Teile
	Bouillon	1 Teil
3.	Pferdeserum	2 Teile
	Bouillon	1 Teil.

Ersetzt man das menschliche Serum durch Ascitesflüssigkeit, so muss man auf einen Teil davon 2 Teile Bouillon nehmen.

Dies sei — sagt Nicolle — eine vorzügliche Jllustrierung der ausserordentlichen Empfindlichkeit der Mikroorganismen für die ihnen zu Gebote stehenden Nahrungsmittel.

Fasst man kurz zusammen, was die verschiedenen Autoren bezüglich der Unität der Streptokokken einerseits und der Virulenz resp. deren Schwankungen andrerseits sagen, so kann man wohl resultieren, dass die Virulenz einer betreffenden Spezies eine

unveränderliche Arteigenschaft nicht ist, sondern dass sie von zahlreichen Nebenumständen abhängig ist, die im Verlaufe dieser Abhandlung des Öfteren schon erwähnt wurden.

Dem experimentellen Teil meiner Versuche möchte ich noch vorausschicken, dass ich der besseren Übersicht halber die Alkalescenz der Nährboden mit ganzen Zahlen — entsprechend dem Tropfengehalt — bezeichnete, während beispielsweise Cantani bei der Titrierung der Alkalescenz die Menge der gebrauchten Zehntel-Normallösung mit 0,00063 multiplizierte, entsprechend der Menge Oxalsäure, die in 1 ccm Lösung enthalten war.

In dem Bestreben, in erster Linie hochvirulente Kulturen von Streptokokkus epui zu züchten, schlug ich anfangs den herkömmlichen Weg ein, indem ich mit grossen Dosen schwach virulenter Kulturen impfte und dann durch Platten-Isolation der meist verunreinigten Kulturen aus dem in der Regel nach 24 Stunden verstorbenen Versuchstier Reinkulturen zu gewinnen suchte, die ich dann weiter verimpfte. Wie wenig ich dabei erzielte mag erläutern, dass beispielsweise eine Maus (D) zum ersten Male am 8. November geimpft wurde und erst am 8. Februar nach zehnmaliger Injektion verstarb, während zahlreiche andere Mäuse nach einmaligem Impfen, andere nach drei- und viermaligem zu Grunde gingen, ohne dass die Kultur quantitativ oder absichtlich qualitativ eine andere war, oder die Konstitution der Mäuse variierte.

Diese Schwierigkeiten bei der Erlangung virulenter Kulturen wird am besten ein Auszug aus den Aufzeichnungen erläutern, die ich täglich nach geschehenen Injektionen machte.

3. XI. Eine Drusestreptokokken - Kultur vom 15. IX., die im hängenden Tropfen keine Ketten

zeigt und agglutiniert erscheint, übertrage ich auf 2 Bouillon-Kulturen — cult α und cult β — und verimpfte gleichzeitig 1 ccm dieser Kultur auf Maus A.

4. XI. Kulturen α und β sind noch nicht gewachsen. Maus A lebt, doch zeigt pathologische Veränderungen an Augen und Extremitäten.

6. XI. Maus A, die am Abend des 5. XI. verstorben -- also post injektionem 36 Stunden lebte — wird seziert: in der Milz sind sehr wenige — meist agglutinierte Streptokokken nachzuweisen; eine Kettenanordnung von 3 Gliedern ist zu sehen. Herzblut dagegen ohne Streptokokken.

Aus dem Milzblut übertrage ich 2 Kulturen auf Agar — cult γ.

7. XI. Beide Agar-Kulturen (cult γ) zeigen starke Verunreinigungen und sind nicht brauchbar.

Auch die Kulturen α und β vom 3. XI. sind verunreinigt und mit dicken Schichten von Staphylokokken überwachsen.

8. XI. Agar-Kultur γ wird auf Bouillon übertragen und aus cult β werden Agar-Platten behufs Isolation gegossen.

10. XI. Kulturen β (Agar) scheinen brauchbar; aus ihnen werden angelegt: cult δ -- schräg Agar und 2 Bouillon-Kulturen.

11. XI. Die Kulturen δ haben sich gut entwickelt und scheinen nicht verunreinigt. Maus B wird mit 1 ccm dieser Bouillon — cult δ — geimpft. Ausserdem lege ich an δ_1 cult — schräg Agar — aus derselben Kultur.

12. XI. δ_1 cult gut gewachsen, ohne Verunreinigung; ich übertrage von ihr:

δ_2 cult auf Agar

δ_3 cult auf Bouillon.

Maus B lebt, aber erscheint stark verändert mit halb geschlossenen Augen, starkem Herzschlag und Krampfbewegungen.

13. XI. Maus B schwer krank.

cult δ_3 ohne Streptokokken; aus ihr angelegt:

δ_4 cult — Agar

14. XI. Maus B erholt sich — nahezu normaler Herzschlag.

δ_4 cult mit isolierten Ketten gewachsen; aus ihr cult δ_5 — Bouillon — übertragen; aus der gut gewachsenen δ_2 cult übertrage ich:

δ_6 cult — Bouillon

δ_7 cult — Agar

δ_8 cult — Gelatine Stich.

15. XI. Kulturen δ_5, δ_6, δ_7 scheinen isolierte Ketten aufzuweisen, doch sind sie noch schwach entwickelt. Zur Kontrolle δ_9 cult — Gelatine Stich angelegt aus δ_5 cult. Maus C mit 2 ccm δ_5 cult geimpft. Diese Kultur stammt aus δ_4 cult — schräg Agar — diese aus δ_3 Kultur — Bouillon und diese aus δ_1 cult — Agar, die noch immer rein zu wachsen scheint.

Die Impfkultur δ_5 erscheint nicht verunreinigt, wenn auch nicht stark entwickelt.

17. XI. Maus C lebt noch und scheint nicht krank. Sie wird nochmals mit 1 ccm δ_6 cult geimpft.

δ_6 cult stammt aus δ_3 cult — Agarplatte, die noch immer gut wächst und von Verunreinigungen frei zu sein scheint.

18. XI. Aus δ_4 cult werden 3 Bouillon-Kulturen angelegt:

δ_{10}, δ_{11} und δ_{12} cult.

19. XI. Maus D wird mit einer Mischkultur aus Streptokokken und Kolibazillen geimpft, um die Empfänglichkeit des Tieres für Streptokokken zu erhöhen. Die Injektion besteht aus: 2 ccm Mischkultur ($^1/_2$ Kolibazillen-Kultur vom 17. XI., $^1/_2$ Streptokokken-Kultur δ_8 vom 12. XI.)

δ_8 cult stammt aus δ_1 cult, hat also Maus A passiert.

20. XI. Die Mäuse leben sämtlich noch, scheinen gesund und sind lebhaft.

Maus E wird mit 2 ccm δ_{10} cult geimpft u. z. peritoneal, während Mäuse A bis D eine subkutane Injektion erhielten.

Aus dieser Impfkultur δ_{10} lege ich eine neue schräg Agarkultur an — δ_{13} cult.

21. XI. Sämtliche Mäuse leben noch; ich gedenke mit der ältesten vorhandenen Kultur (cult γ aus β cult-Agar) noch einmal zu impfen.

Maus B wird zum zweiten Male mit 2 ccm δ_1 cult geimpft).

22. XI. Mäuse leben noch. Aus δ_{13} cult lege ich 2 neue Kulturen an:

δ_{14} und δ_{15} cult

Maus D wurde mit 2,5 ccm δ_{11} cult geimpft.

24. XI. Mäuse leben noch. Maus D wird zum dritten Male mit 2,5 ccm δ_{14} cult geimpft.

25. XI. Mäuse gesund. Aus δ_{15} cult — Bouillon übertrage ich eine Kultur auf Agar — δ_{16} cult, ferner aus δ_{18} cult eine Bouillon-Kultur — δ_{17} cult.

26. XI. Mäuse B, C und D mit je 0,4 ccm Toxin geimpft.

27. XI. Mäuse B, C und D zeigen Krampferscheinungen. Aus δ_{16} cult lege ich eine schräg — Agar-Kultur an — δ_{18} cult — und 2 Bouillon-Kulturen — cult δ_{19} und cult δ_{20}.

28. XI. Mäuse leben noch. Maus B wird nochmals mit 0,5 ccm Toxin geimpft.

1. XII. Maus B mit 2,5 ccm δ_{17} cult geimpft.

2. XII. Maus B mit 2,5 ccm δ_{20} cult geimpft. Aus δ_{18} cult wird eine neue Bouillon-Kultur δ_{21} cult angelegt.

Maus D mit 2 Oesen Agar-Kultur (δ_{18} cult) geimpft.

3. XII. Maus B mit 2 ccm δ_{19} cult geimpft; Maus F mit 5 ccm derselben Kultur — cult δ_{19}

4. XII. Maus B tot und Maus F im Sterben.

Aus Maus B werden folgende Kulturen übertragen:

ε_1 cult — Agar
ε_2 cult — Agar — aus ε_1
ε_3 cult — Agar — aus ε_2
ε_4 cult — Bouillon
ε_5 cult — Bouillon
ε_6 cult schräg Agar

5. XII. Maus F tot. Folgende Kulturen aus ihr angelegt:

ζ_1 cult — Bouillon — Herzblut
ζ_2 cult — Agar — Milz
ζ_3 cult — Agar Lunge

Maus D wird mit dem Herzblut der gestorbenen Maus F subkutan infiziert.

6. XII. Aus ε_5 cult werden 3 Agarplatten gegossen:

ε_7, ε_8 und ε_9 cult.

Mit dem Rest dieser ε_5 cult wird Maus G geimpft.

Maus C nochmals mit ε_4 geimpft — 2 ccm. ferner werden aus ε_4 cult 2 neue Bouillon-Kulturen angelegt:

ε_{10} und ε_{11} cult.

8. XII. Maus C gestern gestorben.

Folgende η Kulturen aus ihr angelegt:

η_1 — Bouillon-Kultur
η_2 — Bouillon-Kultur
η_3 — Agar-Kultur
η_4 schräg Agar-Kultur.

9. XII. Aus ε_3 cult lege ich 2 Bouillon-Kulturen an ε_{12} und ε_{13} cult; ferner eine Schräg-Agar-Kultur ε_{14} cult und ε_{15} cult — Agar.

Maus E wird mit 5 ccm η Kultur geimpft. (aus Maus C).

10. XII. Maus E nach 20 Stunden gestorben.

Aus ihrem Herzblut lege ich 1 Bouillon-Kultur an ϑ_1 cult.

11. XII. In der Milz, der Lunge und dem Herzblut der Maus E sind zahlreiche Diplokokken zu finden, während eine Kettenanordnung der Kokken nicht zu konstatieren ist.

12. XII. Aus einer alten Kultur vom 3. XII. lege ich folgende Kulturen an:

ι_1 cult — Agar
ι_2 cult — Agar
ι_3 cult — Bouillon
ι_4 cult — Bouillon

13. XII. Maus D mit 2,5 ccm ι_3 cult subkutan geimpft. Von ι_3 cult übertrage ich eine neue Bouillon-Kultur ι_5 cult.

15. XII. Aus der Kultur vom 3. XII., die ich der Maus H injiziere, übertrage ich folgende Kulturen:

$\varkappa_1$ cult — Agar
$\varkappa_2$ cult — Bouillon
$\varkappa_3$ cult — Bouillon

Ich impfe Maus G mit 5 ccm ι_5 cult und Maus H mit oben genannter Kultur.

16. XII. Aus $\varkappa_2$ und $\varkappa_3$ cult übertrage ich 2 neue Bouillon-Kulturen:

$\varkappa_4$ und $\varkappa_5$ cult.

Die Mäuse leben sämtlich und zeigen nichts Pathologisches, das auf ein letales Ende schliessen liesse.

Ich übertrage aus $\varkappa_1$ cult eine Kultur auf schräg — Agar — $\varkappa_6$ cult.

Maus D wird mit 2 ccm $\varkappa_2$ cult geimpft.

17. XII. Aus x_4 cult übertrage ich eine neue Bouillon-Kultur — x_7 cult und aus x_5 cult ebenfalls x_8 cult — Bouillon.

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, dass die anfangs schwach virulente Kultur wohl einen höheren Grad ihrer Virulenz erreichen konnte, dann aber durch das häufige Überimpfen auf die verschiedenen Nährböden ihre Virulenz gänzlich verlor; allerdings ist dabei zu bemerken, dass die Auswahl und die Folge der Böden unsystematisch vorgenommen wurde und dass manche Versuchstiere durch häufiges Wiederimpfen einen gewissen Grad von Immunität erreicht haben dürften.

Auch erschien es mir für den abgeschlossenen ersten Teil meiner Versuche mangelhaft, dass die Kultur, von der ich ausging, ein verhältnismässig hohes Alter hatte; hatte sie doch $1^1/_2$ Monate ohne überimpft zu werden, im Brutschrank gestanden!

So lag es denn nahe, für eine neue Versuchsreihe frischeren Druseeiter zu verwenden. Ich erhielt einen solchen am 2. II. und begann mit ihm am selben Tage den 2. Teil meiner Untersuchungen, die schon ein anderes Bild zeigen sollten.

Es folgt hier wiederum ein Auszug aus meinen Aufzeichnungen:

2. II. Aus frischem Druseeiter wurden folgende Kulturen angelegt:

a_1 cult — Agar.
a_2 cult — Bouillon.

3. II. Maus D und Maus J je mit 2 ccm cult a_2 geimpft. — Aus cult a_2 werden 2 neue Bouillon-Kulturen angelegt:

a_3 cult.
a_4 cult.

4. II. Mäuse D und J heftig erkrankt. Aus a_3 cult wird a_5 cult — Bouillon und aus a_4 cult a_6 cult — Agar angelegt. Maus K wird mit 3 ccm a_3 cult geimpft.

5. II. Mäuse leben.
Aus a_5 cult wird angelegt:

a_7 cult — Bouillon.

Maus L wird mit 4 ccm a_5 cult geimpft.

6. II. Maus K nach 48 Stunden gestorben.
Folgende Kulturen werden aus ihr angelegt:

b_1 cult — Agar — Milz
b_2 cult — Bouillon — Milz
b_3 cult — Bouillon — Herz

Maus N wird mit 2 ccm cult b_2 geimpft.

10. II. Maus N nach 24 Stunden gestorben. Aus ihr wurden angelegt:

d_1 cult — Bouillon — Milz
d_2 cult — Agar — Milz.

Maus O wird mit 1 ccm b_3 cult geimpft.

11. II. Aus Maus D wurde angelegt:

e_1 cult — Bouillon — Milz
e_2 cult — Agar — Milz.

Die c-Kulturen zeigen wenig Wachstum.

12. II. Maus M tot; aus ihr angelegt:
f_1 cult — Bouillon — Herzblut
f_2 cult — Agar — Herzblut
f_3 cult — Agar — aus f_2
f_4 cult — Agar — aus f_3.

13. II. Aus b_6 cult. die lange Ketten aufweist, werden 3 Agarplatten gegossen:
b_7, b_8 und b_9 cult.

Aus f_3 cult, die zahlreiche kleine Ketten aufweist, wird Bouillon-Kultur f_5 angelegt.

14. II. Aus f_3 cult angelegt:
f_6 cult — Bouillon
f_7 cult Agar
f_8 cult — ex f_7 cult.

Maus P mit 2 ccm b_5 cult geimpft.

16. II. Aus e_1 cult wird Bouillon-Kultur e_3 gegossen.

17. II. Maus P mit 2 ccm e_1 cult geimpft.

18. II. Mäuse O und P gestorben.

Sämtliche Präparate aus Maus P zeigen reine Streptokokken, oft in wunderbarsten Formen, wie Ringen, Schleifen. Aus ihr sind angelegt:
g_1 cult — Bouillon — Infektions-Stelle
g_2 cult — Bouillon — Milz
g_3 cult — Agar — Infekt.-Stelle
g_4 cult — Agar — ex g_3 cult
g_5 cult — Agar ex g_4 cult.

f_6 cult aus f_3 cult, aus Maus M, die ihrerseits mit Milzpräparat der Maus K getötet, die wiederum

an a_3 cult starb, scheint eine Reinkultur von Streptokokken darzustellen, ist jedoch noch schwach gewachsen. Aus ihr werden übertragen:

f_9 cult — Bouillon·
f_{10} cult. — Bouillon.

19. II. Maus Q mit 2 ccm $e_1 + e_3$ cult geimpft; und Maus R mit 2 ccm $e_1 + e_3$ cult.

20. II. Mäuse Q und R nach 24 Stunden gestorben. Kulturen f_9 und f_{10} sind Reinkulturen von Streptokokkus equi.

Die Sektion der Mäuse Q und R ergiebt, dass die Milz mit kurzen, oft nur 2gliedrigen Ketten von Streptokokkus equi überschwemmt ist.

Hier möchte ich den zweiten Teil meiner Untersuchungen abschliessen, da ich stark virulente Kulturen in den e- und f-Kulturen besass, die in einer Dosis von 2 ccm Bouillon innerhalb 24 Stunden zu töten vermochten.

Fasst man ins Auge, dass die Kultur in derselben Dosis anfangs 5 Tage brauchte, um eine Maus zu töten, so ist eine Zunahme der Virulenz unverkennbar.

Ich benutzte zur Injektion durchweg Kulturen, die in Bouillon gewachsen waren und habe die Erfahrung gemacht, dass Streptokokken-Kulturen auf festen Nährböden einer stärkeren Verunreinigung ausgesetzt sind als wenn sie in flüssigen wuchsen. Jedenfalls konnte ich die zahlreich angelegten Agarkulturen niemals benutzen, selbst nicht, um die Streptokokken zu isolieren; denn, waren sie wirklich isoliert, dann war ihre Virulenz auf ein Minimum

herabgesunken und sie konnten einer Maus in noch so grossen Dosen injiziert werden, ohne ihr zu schaden; auch in den noch folgenden Versuchsreihen bestätigte sich diese Erfahrung.

Wenn ich auch in dem oben angeführten zweiten Zyklus eine gewisse konstante Virulenz meiner Kulturen erzielen konnte, so befriedigte das Resultat doch nicht im Entferntesten, und ich versuchte in den noch folgenden Untersuchungen durch Veränderung der Nährböden eine grössere Beständigkeit zu erwirken: Beständigkeit sowohl mit Hinsicht auf die Virulenz als auch auf die Art der Kokken; denn häufig genug hatte ich Gelegenheit zu beobachten, dass gerade der Nährboden auf die Veränderlichkeit der Ketten sowohl hinsichtlich der Gliederzahl als auch der Grösse der Kokken von allergrösstem Einfluss ist, und zwar ist bei diesen Laboratoriumsversuchen der Nährboden meiner Ansicht nach für die erwähnte Variabilität von grösserem Einfluss als das Tier, durch welches die Bakterien passierten, demgemäss auch verantwortlich für die mannigfachen sich oft widersprechenden Resultate, die man erzielt.

Wie ich schon oben erwähnte, habe ich bessere Erfolge bei den flüssigen Böden gehabt, als bei den festen Agarnährböden und in erster Linie wandte ich ihnen denn auch meine grössere Aufmerksamkeit zu, wenn ich auch der Kontrolle wegen die festen Nährböden nicht ausser Acht liess.

14. III. Aus frischem Druseneiter, der mikroskopisch kolossale Ketten aufweist, werden folgende Bouillon- und Agar-Kulturen angelegt.

a_1 cult — Bouillon

a_2 cult — Agar — fraktionierte Aussaat

a_3 cult — Agar.

Ausserdem werden der Maus A drei Ösen dieses Eiters einverleibt.

16. III. Maus A lebt, doch zeigt krankhafte Veränderungen. Aus a_3 cult wird eine neue Kultur auf Ascites-Agar gegossen = a_4 cult.

Maus B wird mit 1 ccm a_1 cult geimpft.

17. III. Maus B tot.

23. III. Die Kulturen auf Agar sind verunreinigt, die auf Bouillon rein gewachsen. Aus einer solchen a_4 Kultur wird eine neue Kultur a_5 angelegt und 2 ccm dann der Maus C injiziert.

In der a_5 Kultur waren 2 Arten von Streptokokken nachweisbar u. z. 1. Dicke nach Gram positive kurze Ketten; 2. äusserst kleine nach Gram negative lange Ketten, die aufs Merkwürdigste verzweigt waren.

24. III. Maus C schon nach 6 Stunden tot. Die Sektion ergab, dass die Milz und das Herz von zahlreichen 3gliedrigen Ketten sehr kleiner Kokken durchsetzt waren.

25. III. Cult a_6 (auf Pepton-Wasser geimpft) zeigt kleine nach Gram negative Ketten; versuchsweise wird Maus D damit geimpft (2 ccm) und Maus E mit 2 ccm a_7 Kultur.

27. III. Maus E nach 6 Stunden tot. Aus dieser stark virulenten Kultur a_7 wird cult a_8 übertragen. Maus E zeigt in der Milz ausser Streptokokken eine äusserst feine Granulation, die ich für Ehrlichsche Mastzellenkörner aussprechen möchte.

28. III. Cult a_6 (Peptonwasser) und cult a_8 (Bouillon) zeigen Anlage zur Kettenbildung. Cult a_8 jedoch besser als cult a_6.

2. IV. Maus D mit 2 ccm cult a_6 geimpft und Maus F mit 1 ccm Bouillon Kultur a_8. Aus a_8 cult wird eine neue Kultur a_9 auf Harnagar angelegt.

3. IV. Maus F verstarb nach 18 Stunden. Bei der Sektion sah ich eine stark vergrösserte Milz, sonst normale Organe. Streptokokken waren nur in der Milz nachweisbar, einzelne grosse Zellen mit körnigem Inhalt weisen auf Phagocytose hin. In den Nieren sind zahlreiche nach Gram negative Kokken, die kettenförmig angeordnet sind.

8. IV. Maus G mit 2 ccm Bouillon cult a_9 geimpft.

Diese hier abgeschlossene Versuchsreihe soll zeigen, dass eine anfangs hoch virulente Kultur ihre Giftwirkung stark einzubüssen vermag, vielleicht dadurch dass ich in der Wahl der Nährböden nicht richtig vorging. Ich gebrauchte, wie aus der oben angeführten Tabelle ersichtlich ist, Nährböden, denen Peptonwasser, Ascites- und Harnagar zugesetzt war.

Merkwürdig erschien mir das mehrmalige Vorkommen von kleinen nach Gram negativen Streptokokken.

Ich setzte meine Versuche am 29. IV. in anderer Richtung fort und ging dabei von dem Gedanken aus, den Alkalescenzgrad des Nährbodens zu variieren, derart, dass ich als Durchschnittsquantität der Nährflüssigkeit 10 ccm annahm und ihr je eine, zwei, drei u. s. w. Ösen der die Alkalescenz bewirkenden Materie hinzufügte. Mit „Alk. I" bezeichne ich demnach eine Bouillonmenge von 10 ccm + 1 Öse Normallauge.

29. IV. Maus H mit 1 ccm cult 16 (Alk. III) geimpft. Cult 17 und cult 18 auf Hammelserum
+ Traubenzucker-Bouillon
+ alkalische Bouillon
übertragen.

Cult 16 (Alk. III) zeigt lange prächtige Ketten.

30. IV. Maus H nach 24 Stunden gestorben. Milz, Herz und Nieren zeigen zahlreiche äusserst kleine Diplokokken mit scharf sichtbarer Kapselbildung.

1. V. Cult 20 (Alk. V) zeigt gute Ketten. Mit ihr wird Maus G (1 ccm) geimpft.

2. V. Maus J mit 2 ccm der Kultur 19 geimpft.

Cult 20 (Alk. V) zeigt Ketten in Reinkultur; die Kokken sind dick und schwer färbbar.

Aus cult 19 überimpfe ich cult 22 (Alk. VII).

4. V. Maus J nach 24 Stunden gestorben. Milz, Leber, Nieren und Herz sind mit Streptokokken überschwemmt. Mit dem Milzblut wurde Bouillon-Kultur 23 geimpft.

Bouillon-Kultur 22 (Alk. VII) zeigt äusserst zarte kleine 3 bis 5gliedrige Ketten.

6. V. Cult 22 (Alk. VII) zeigt Reinkulturen von Streptokokken, die in ihrer ganzen Kettenanordnung eingekapselt erscheinen.

Kult 21 (Alk. ±) zeigt keine Kapseln.

7. V. Agar-Kultur 23 (Alk. VII) zeigt gute Ketten. Mit ihr werden Maus G und Maus K geimpft, um event. auch die Immunität der Maus G nachzuweisen.

Bei cult 23 (Alk. VII) und cult 22 (Alk. VII) treten wiederum die Kapseln stark hervor.

8. V. Cult 24 — Agar — Alk. VII aus cult 22 — Bouill. Alk. VII zeigt kaum erkennbare kleine Ketten. Da dieses Kleinwachstum anscheinend eine Folge der zu grossen Alkalescenz ist, reduzierte ich den Salzgehalt und goss aus cult 23 (Alk VII) die Bouillon cult 26 (Alk. I).

9. V. Cult 26 zeigt kurze äusserst kleine Kokkenketten. Aus ihr wird cult 28 (Alk. I) übertragen.

11. V. Maus L wird mit 2 ccm Bouillon cult 26 (Alk. I) geimpft. Die Alkalescenz in cult 28 ist wieder eine normale — es bilden sich Staphylokokken.

12. V. Cult 28 wurde nachträglich alkalisiert (VII) und nach 24 Stunden sind die Kokken in 3- bis 4gliedrigen Ketten zu sehen, auch 7- bis 8gliedrige sind erkennbar; bei halber Blende sieht man die ganzen Ketten von prachtvollen stark lichtbrechenden Kapseln umgeben. Aus ihr wurde eine neue Bouillon Kultur 29 (Alk. $\pm$) übertragen. Maus G und Maus M wurden je mit 2 ccm cult 28 geimpft. Aus cult 28 wurde cult 30 auf Agar (Alk. III) übertragen.

13. V. Maus M nach 18 Stunden gestorben. Die Sektion ergab, dass Milz, linke Niere, Leber und Herz frei von Bakterien waren, dass jedoch das Pleuralexsudat zahlreiche Streptokokken aufwies. Die Ketten waren höchstens 3gliedrige, meistens jedoch nur 2gliedrige (Diplokokken). Eine Kapselbildung war deutlich sichtbar. Dass Maus G, die mit derselben Kultur geimpft war, nicht starb, bewies, das sie immun ist.

Cult 29 (aus cult 28), an der Maus M starb, zeigt zahlreiche Ketten, ihre Alkalescenz ist nunmehr eine neutrale.

Maus N wird mit 2 ccm cult 29 geimpft.

Aus dem Pleuralexsudat von Maus M übertrage ich Bouillon cult 31 (Alk $\pm$).

14. V. Maus N starb nachts nach 18 Stunden. Die Milz weist zahlreiche doch äusserst kurze Streptokokken auf. Agar Cult 30 (Alk. III) ist gut gewachsen.

Cult 31 (aus Maus M) zeigt zahlreiche Ketten.

Cult 32 (Alk. ±) wurde aus Cult 30 (Agar) auf Bouillon angelegt.

Cult 33 (Agar — Alk. III) aus cult 31 wird auf cult 34 (±) überimpft.

15. V. Befund der Kulturen:

Cult 30 — Agar — Alk III —
Ketten von 2—3 Gliedern,
Cult 31 — Bouillon — Alk ±
Diplokokken,
Cult 32 — aus 30 — Bouillon — Alk. ±
4- bis 5gliedrige Ketten,
Cult 33 — aus 31 — Alk. III
2- bis 3gliedrige Ketten.

Es wurden neu angelegt:

cult 35 (Alk. IV) aus cult 31 (±)
cult 36 (Alk. VI) aus cult 32 (±)
cult 37 (Alk. IV) aus cult 32 (±).

Maus O wird mit 1 ccm cult 29 geimpft.

16. V. Maus O schwer krank.

Kulturen 35—37 gut gewachsen ohne wesentlichen Unterschied in der Kettenbildung. Aus cult 29 werden angelegt:

cult 38 (Alk. ±)
cult 39 (Alk. III)
cult 40 (Alk. V)

und aus cult 28, die noch immer Reinkultur darstellt

cult 41 — Alk. III
cult 42 — Alk. III.

18. V. Maus O tot. Im Herzblut sind zahlreiche Streptokokken nachzuweisen, in Ketten zu 3 Gliedern und von sehr dickem Aussehen. In der Leber konnte die Phagocytose gut beobachtet werden.

19. V. Kulturen 38 bis 42 sind sämtlich schön und rein gewachsen. Es werden geimpft:

Maus G mit 1 ccm cult 38 — Alk. ±
Maus Q „ 1 ccm „ 38 — Alk. ±
Maus R „ 1 ccm „ 41 — Alk. III
Maus K „ 1 ccm „ 41 — Alk. III
Maus L „ 2 ccm „ 42 — Alk. III

Angelegt wurden:

Aus cult 38 — cult 43 — Alk. ±
aus cult 41 — cult 44 — Alk. ±

21. V. Mäuse Q und R tot; da die gleichzeitig und mit korrespondierenden Kulturen geimpften Mäuse G, K und L leben, muss für sie eine Immunität konstatiert werden.

22. V. Das Pleuralexsudat der Maus Q zeigt Streptokokken bis zu 4 Gliedern, doch meistens Diplokokken mit starker Kapselbildung. Auch Maus R zeigt ähnliche Erscheinungen. Maus S wird mit einem Gemisch von 2 ccm cult 38, 41, 43 und 44 geimpft. Mit derselben Mischkultur wird Maus T geimpft.

23. V. Mäuse S und T tot. Im Pleuralexsudat zahlreiche Kokken; daraus angelegt:

cult 45 (Alk. ±)
cult 46 (Alk. III)
cult 47 (Alk. IV).

8. VI. Nach 14tägigem Wachstum (ohne Kontrolle) wurden die Kulturen 45, 46 und 47 untersucht und ergaben folgendes Resultat:

cult 45 (Alk +) zeigt 2 Arten von Streptokokken: ganz kleine und sehr dicke. Neigung zur Kettenbildung schwach, dagegen Anlage zur Staphylokokkenbildung.

Cult 46 (Alk. III): Staphylokokken mit deutlicher Kapselbildung. Cult 47 (Alk. IV): schwaches Wachstum; keine Staphylokokken — gute Kettenbildung mit Kapseln.

Aus cult 47 (Alk. IV) übertrage ich cult 48 (Alk. III).

9. VI. Cult 48 (III) zeigt schöne Ketten von ausserordentlich kleinen Kokken, manchmal in 8 bis 9 Gliedern.

Es ist ersichtlich, dass das Resultat am Ende dieser Untersuchungsreihe ein wesentlich anderes ist, als am Ende des 2. Zyklus, obgleich die Kultur, von der ich ausging, dieselbe war wie dort.

Während ich damals jegliche Virulenz verloren hatte, ist sie hier gewachsen und bleibt während der Untersuchungszeit auf ihrer vollen Höhe, ja, verliert sie sogar dann nicht vollkommen, als die Kulturen während zweier Wochen nicht überimpft werden konnten.

Diese Erfolge schreibe ich, wie schon erwähnt, dem ganz bestimmten Alkalescenzgehalt zu, u. z. scheint mir die Alkalescenz von III die günstigste Wirkung auszuüben.

Welche besonderen Wachstumserscheinungen und morphologischen Veränderungen ich dabei beobachtete, werde ich später erwähnen.

Es folgt eine Versuchsreihe, bei der ich ausschliesslich Bouillon-Nährböden mit dem Alkalescenzgehalt III verwandte. Aus der nachfolgenden Tabelle ist ersichtlich, dass die Resultate befriedigten.

9. VI. Ich erhalte einen neuen Druseneiter und impfe damit cult a_1 (Alk. III).

Mikroskopisch zeigt der Eiter zahlreiche dicke Trauben von Staphylokokken und nur vereinzelte Ketten, deren Kokken sehr klein sind.

Die alten und zum Teil wohl immunen Mäuse G, K und L wurden mit je 2 ccm cult a_1 geimpft.

10. VI. Cult a_1 (Alk. III) ist gut gewachsen. Die Kapselbildung ist stark ausgeprägt. Staphylokokken nicht sichtbar. Maus α wird mit 1 ccm dieser Kultur a_1 geimpft.

Aus ihr (cult a_1) übertragen:

cult a_2 (Alk. $\pm$)
cult a_3 (Alk. III)
cult a_4 (Alk. V)
cult a_5 (Alk. VII).

11. VI. Maus α nach 24 Stunden tot. Mäuse G, K und L leben. Die Sektion der Maus α ergab, dass sie vollständig mit Streptokokken überschwemmt ist, u. z. hauptsächlich mit Diplokokken. Mit dem Pleuralexsudat wird Meerschwein A infiziert.

Resultat der Untersuchungen:

Cult a_2 (Alk. $\pm$):

Neigung zur Staphylokokken-Bildung

cult a_3 (Alk. III):

Ketten von 10 Gliedern,

cult a_4 (Alk. V):

2 bis 3 gliedr. Ketten,

cult a_5 (Alk. VII):

schwaches Wachstum, vereinzelte Diplokokken.

Aus der Milz der Maus α übertragen:

cult b_1 (Alk. III)

cult b_2 (Alk. V).

Mit den Kulturen a_2 (Alk. $\pm$) und a_3 (Alk. III), die sehr charakteristische Unterschiede zeigen, werden geimpft:

Maus β — cult a_2

Maus γ — cult a_3, je 1 ccm.

12. VI. Maus γ nach 24 Stunden tot; Maus β lebt, doch ist sehr krank. Maus K tot. Die Untersuchung der Maus γ ergab, dass sämtliche Organe mit Streptokokken überschwemmt sind. Vereinzelte Diplokokken, sonst langgliedrige Ketten mit starker Kapselbildung.

Abends starb auch Maus β. Ihre Sektion ergab, dass hier viel weniger Streptokokken als bei Maus γ vorhanden. Keine Kapselbildung.

Aus Maus γ wurde übertragen: cult c_1 und aus Maus β — cult d_1. Maus δ mit 1 ccm cult b_1 (III), Maus ε mit 1 ccm cult b_2 (III) geimpft.

13. VI. Mäuse δ und ε, Meerschweinchen A tot. Kulturen c_1 und d_1 gut gewachsen.

Maus δ voller Diplokokken, Maus ε zeigt viel weniger Kokken.

Aus Maus δ übertragen:

cult e_1 (Alk. ±),
cult e_2 (Alk. III),
cult e_3 (Alk. V).

Maus ζ wird mit 0,5 ccm cult d_1 geimpft.

Aus Maus δ angelegt:

cult e_4 (Alk. III).

15. VI. Resultate der Kulturen:

cult e_1 (Alk. ±): lange Ketten,
cult e_2 (Alk. III): 20gliedrige Ketten,
cult e_3 (Alk V): lange Stäbchen, verunreinigt.

Maus ζ nach 24 Stunden tot. Die Sektion ergab, dass im Exsudat zahlreiche 3- bis 4gliedrige Ketten vorhanden waren. Gut sichtbar waren die Leukocyten, umlagert von Streptokokken.

Maus η mit 0,25 ccm cult d_1 geimpft.

16. VI. Maus η tot. Sektion ergab eine ausserordentliche Hypertrophie der Milz. Im Exsudat zahlreiche 2- bis 3gliedrige Ketten.

Daraus angelegt: cult g_1 (Alk III); Maus ι mit 0,125 ccm f_1 cult und Maus x mit 0,06 ccm derselben Kultur.

17. VI. Mäuse ι und x nach 24 Stunden tot bei 0,125 ccm resp. 0,06 ccm Injektionsdosen.

Maus λ mit dem Exsudat der Maus x infiziert.

18. VI. Maus λ nach 10 Stunden tot. Die Sektion der Mäuse ι, $\varkappa$ und λ zeigte Hypertrophie der Milz, in der jedesmal zahllose Streptokokken nachweisbar sind. Kaninchen A mit 4 ccm cult h_1 (aus Maus ι) geimpft und Meerschweinchen B mit derselben Kultur (3 ccm).

19. VI. Maus μ mit 0,5 ccm g_2 cult und Maus ν mit 0,5 ccm h_1 cult geimpft.

20. VI. Meerschweinchen B tot, Mäuse μ und ν tot, Kaninchen A lebt, Kaninchen B mit 5 ccm h_1 cult geimpft und Maus ρ mit 0,125 ccm h_1 cult.

22. VI. Maus ρ nach 12 Stunden tot. Zahllose 3 bis 4gliedrige Ketten in Milz, Herzblut und Nieren.

Ich besass jetzt also in den h-Kulturen — wenn man nicht ausser Acht lässt, dass es sich um Drusestreptokokken handelt — solche von hoher Virulenz; vermochte doch ein achtel ccm eine Maus nach 10 Stunden zu töten!

Es lag mir daran, zu sehen, ob der Alkalescenzgrad der Kulturen auch bei nachfolgender Serumbehandlung von Einfluss auf den Heilerfolg wäre; ich gebrauchte dazu 2 Stämme meiner Kulturen, u. z. einerseits eine Kultur (e_1 cult) vom 11. II., die aus der Maus D stammte und virulent genug war, um eine Maus P innerhalb 24 Stunden zu töten (am 18. II.), andrerseits eine Kultur (b_2 cult) vom 12. VI., die ebenfalls in derselben Dosierung (1 ccm) die Maus E nach 24 Stunden tötete; nur hatte

b_2 cult in ihrem Entstehen stets Nährböden von der Alkalescenz III passiert, während die erstgenannte Kultur (e_1 cult) stets auf neutraler Bouillon gewachsen war. Als Serum verwandte ich das von DDr. Jess und Piorkowski hergestellte Druse-Streptokokken-Serum.

23. VI. Mit je 2 ccm Kultur wurden geimpft:

Maus a — cult e_1 — (Alk. $\pm$)
Maus b — cult b_2 — (Alk. III)
Maus c — cult e_1 — (Alk. $\pm$) + 0,125 Serum
Maus d — cult b_2 — (Alk. III) + 0,125 Serum

Nach der Injektion zeigen Mäuse c und d heftige Krampferscheinungen.

24. VI. Sämtliche Mäuse tot. Die Sektion ergab bei ihnen: Hypertrophie der Milz, die voller Streptokokken war; bei den Mäusen c und d sind im Herzblut grosse Leukocyten sichtbar, in denen und um die herum Kokken lagen.

Ich impfte (je 1 ccm)

Maus e — e_1 cult ($\pm$)
Maus f — b_2 cult (III)
Maus g — e_1 cult ($\pm$) + 0,25 Serum
Maus h — b_2 cult (III) + 0,25 Serum

Mäuse g und h zeigen wiederum Krampferscheinungen. Maus f schon abends tot (10 Stunden).

25. VI. Mäuse e und h tot. Maus g gesund, lebhaft und zeigt grossen Appetit.

26. VI. Maus g vollkommen normal. Geimpft wurden (je 1 ccm):

Maus i — e_1 cult ($\pm$)
Maus k — e_1 cult ($\pm$) + 0,25 ccm Serum.

Maus k stirbt während der Injektion.

Maus l — e_1 cult (±) + 0,25 ccm Serum.

27. VI. Maus i nach 24 Stunden tot. Maus l lebt, doch liegt ruhig da mit geschlossenen Augen, ohne Fresslust.

28. VI. Maus l hat sich erholt und zeigt Appetit; die Augen sind noch vereitert. Ich injiziere ihr nochmals 0,25 ccm Serum; darauf starke Krampfbewegungen. Maus g vollkommen gesund.

29. VI. Maus l ist lebhaft und hat Appetit.

30. VI. Mäuse g und l normal.

Das Resultat dieser Impfversuche scheint mir folgendes zu sein:

Die b-Kulturen (Alk. III) sind so virulent, dass die gebrauchte Serummenge nicht genügte, um die Phagocytose wirksam zu unterstützen, während die Kulturen vom neutralen e-Stamme der Heilwirkung des Serums nicht diesen Widerstand entgegensetzten.

Es kam mir lediglich darauf an, die grössere Giftwirkung der b-Kulturen nachzuweisen und weniger die Heilwirkung des Serums.

Und das erscheint mir zufolge der oben angeführten Tabelle vollauf gelungen!

Das Pleuralexsudat der an cult b_2 (Alk. III) nach 24 Stunden gestorbenen Maus f sog ich mittels Capillarröhrchen auf, schmolz das Rohr ab und impfte damit in der Königlichen Biologischen Anstalt auf Helgoland:

cult a — Alk. III und

cult b — sterilisiertes Meerwasser.

Meerwasser nahm ich versuchsweise als natürlichen Ersatz für die künstliche Alkalescenz.

8. **VII.** cult a (III) zeigt gut gewachsene Ketten von Kokken cult b (M. W.) zeigt kleine höchstens 3gliedrige Ketten.

Übertragen wurden:

Aus cult a (III) — cult a_1 (III) und aus cult b (M. W.) — cult b_1 (M. W.);

Mit cult a wurde Schellfisch A (5 ccm) geimpft und mit cult b Schellfisch B (5 ccm)

Nach der Injektion, die überaus beschwerlich vorzunehmen ist, zeigen die Fische grosse Lebhaftigkeit.

9. **VII.** Kulturen a_1 und b_1 gut gewachsen. Aus ihnen werden übertragen:

cult a_2 — Alk. III
cult b_2 — M. W.

Schellfische A und B zeigen keine Veränderung.

10. **VII.** Cult a_2 (Alk. III) zeigt 3 bis 4gliedrige Ketten sehr kleiner Kokken mit äusserst starker Kapselbildung.

cult b_2 (M. W.) ist auch gut gewachsen, scheint aber Neigung zur Agglutination zu haben,

Aal A wird mit 2,5 ccm cult a_2 geimpft.

12. **VII.** Schellfisch A tot. Die Sektion zeigt keine Veränderung der Organe; nach mehrstündigem Suchen fand ich jedoch im Blut ganz vereinzelte Diplokokken.

Schellfisch B gesund.

14. **VII.** Aal A tot. Er enthielt zahlreiche Bakterien, aber keine Streptokokken, von denen ich

mit Bestimmtheit behaupten könnte, dass sie von der Impfkultur stammten.

15. VII. Aus cult a_2 wird cult a_3 (Alk. III.) und aus cult b_2 — cult b_3 (M. W.) übertragen.

Schellfisch D mit 5 ccm cult a_2
Schellfisch E mit 5 ccm cult b_2 geimpft.
ferner Aal B mit 2,5 ccm cult a_2
und Aal C mit 2,5 ccm cult b_2

20. VII. Schellfisch D tot. Keine Streptokokken nachweisbar. Die übrigen Fische leben.

Barsch A mit 1 ccm cult a_3 und Barsch B mit 1 ccm cult b_3 geimpft.

23. VII. Barsch A tot. Im Blute sind zahlreiche Streptokokken meist in Ketten zu 3 Gliedern zu sehen; ausserdem konstatierte ich am Conus arteriosus vereinzelte Diplokokken.

Auch diese letzte Versuchsreihe zeigt Resultate, die nicht uninteressant sind: Die Kulturen von dem Alkalescenzgrade III sind wiederum diejenigen, denen die Versuchstiere nicht widerstehen konnten, während die Kulturen, denen ich Meerwasser als Ersatz der Salze zufügte, wohl nicht alkalisch genug waren. Eine genauere Prüfung der Alkalescenz dieses Wassers war mir in Helgoland nicht möglich.

So komme ich denn zum Schluss und möchte die Resultate meiner Untersuchungen wie folgt kurz zusammenfassen:

Die von mir verwandten Drusestreptokokken Kulturen zeigten hinsichlich ihrer Virulenzschwankungen die relativ grösste Beständigkeit,

wenn ich ihren Nährböden einen oben näher angegebenen Alkalescenzgehalt verlieh, den ich kurz mit „Alk. III“ bezeichnete.

Ein geringerer Alkalescenzgrad lässt die Ketten wohl üppiger wachsen, bewirkt aber eine baldige Abnahme der Virulenz und begünstigt eine Staphylokokkenbildung.

Ein stärkerer Grad der Alkalescenz ist ebenso schädlich: er hat zur Folge, dass die Kokken sehr langsam wachsen und schliesslich — wenn auch später als auf neutralen Böden — ihre Virulenz einbüssen.

Morphologisch beobachtete ich, dass je alkalischer der Nährboden war, desto kleiner die Kokken wurden. Auch die Neigung zur Bildung langer Ketten wird auf neutralen Nährboden begünstigt, während eine starke Alkalescenz selten Ketten von 4 Gliedern aufkommen lässt, häufig sogar nur Diplokokkenbildung erlaubt, wobei ich jedoch beobachtete, dass die kleineren Ketten sich als solche von grösserer Virulenz erwiesen.

Je stärker die Alkalescenz war, desto ausgeprägter erschien mir die Kapselbildung seitens der Kokken zu sein. Die ganzen Ketten umgaben sich mit äusserst umfangreichen, stark Licht brechenden Kapseln, die wiederum in innigem Verhältnis zur Virulenz der Kulturen standen.

Bei den von mir gemachten Seruminjektionen schliesslich, erwies sich das Serum, Kulturen von grösserem Alkalescenzgrade gegenüber als nicht so wirksam, wie dasjenige, das nach Kulturen, die neutral oder schwach alkalisch waren, verimpft wurde: jedenfalls auch ein Zeichen, dass die Nährböden von stärkerer Alkalescenz den Streptokokken eine grössere Widerstandskraft verliehen hätten als die Böden es vermocht hätten, die lediglich aus neutraler Bouillon bestanden.

Literatur-Übersicht.

Arloing, Arch. d. physiol. VII, 1886, 209.
Arloing et Chantre, Arch. d. physiol. Ser. V.
Behring, Centralbl. f. Bakt. 1892.
Bermbach, Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1895, 41.
Besredka, Ann. de l'inst. Pasteur. 1901.
Boix, Arch. génér. de méd. 1899.
Bourget, Soc. de biol. 1893.
Calabrese, Giorn. intern. de scienze m. XVII, 5.
Cantani, Centralbl. f. Bakt. XX, 566.
Cappeletti E. e Vivaldi M. Streptok. equi. Ann. d'Ig. sper. 1898.
Celli, A., Centralbl. f. Bakt. XIX, 536.
Chauveau, Compt. rend. de l'Ac. d. sc. XCVIII 1884, C. 1885; CVIII, 1889.
Dolorés, Soc. de biol. 1893.
Etienne, Arch. d. méd. exp. 1895.
Holst, Centralbl. f. Bakt. XIX, 387.
Lingelsheim, Zeitschr. f. Hygiene. 1892.
Löffler, Kais. Ges. Amt. 1884.
Madson, Zeitschr. f. Hyg. 32.
Manfredi, Ann. de l'inst. Pasteur. 1887, 404.
Marmorek, Ann. de l'inst. Pasteur. 1895 und 1902.
Marot, Arch. de méd. exp. 1893.
Menzer, Therapie d. Gegenwart. 1902.
Meyer, Fritz, Zur Einheit d. Streptok. Berl. kl. Wchschr. 1902.
Neisser, Zeitschr. f. Hyg. 1901.
Nicolle, Grundzüge der allg. Mikrobiologie.
Nocard, Ann. de l'inst Pasteur. XII, 1898, 161.

Pasteur, Compt. rend. de l'acad. de sciene. XCII, 1881; XCV, 1882; XCVIII, 1884; CI, 1885; CII, 1886; CIII, 1887; CVIII, 1889.

Pasteur, Chamberland et Roux, Compt rend. de l'acad. d. sciene. 25. Févr. 1881.

Petruschky, Zeitschr. f. Hyg. XXIII, 142.

Raskin, Centralbl. f. Bakt. 1889.

Roux et Chamberland, Compt. rend. de l'ac. d. sc. 1884.

Schütz, Archiv f. Tierheilkunde. 1888.

Toussaint, Procédé de vaccinetion contre le charbon. 1880.

Veillon, Thèse de Paris. 1894.

Waldvogel, Centralbl. f. Bakt. XV, 837.

Wassermann, Berl. klin. Wchschr. 1899.

Widal et Besançon, Arch. de méd. exp. 1896, VIII, 3.

Zagari, Giorn. Intern. delle scienze med. 1892.



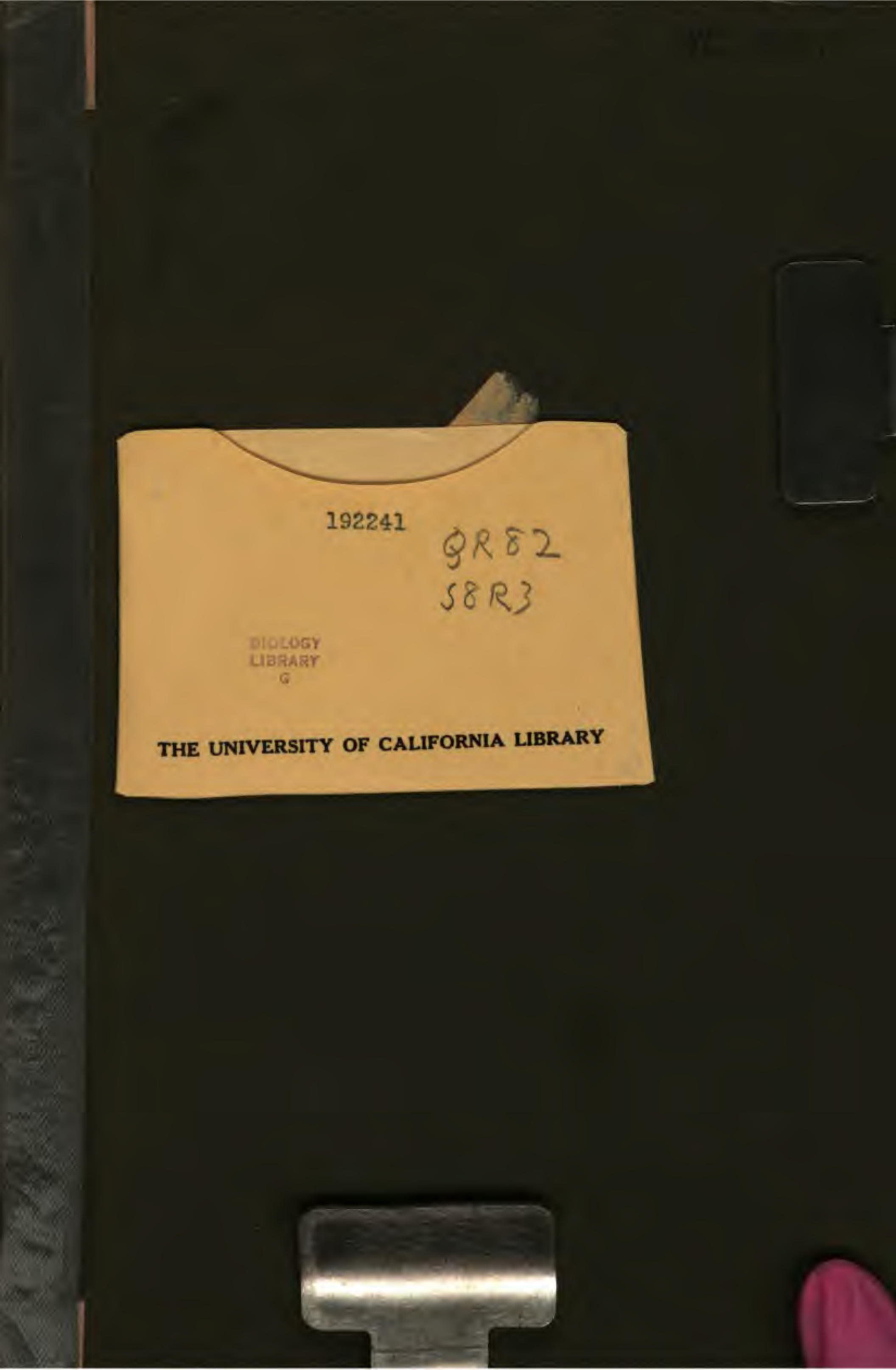
Lebenslauf.

Verfasser beiliegender Abhandlung wurde am 22. Juli 1872 in Bremerhaven als Sohn des Kaufmanns Heinrich Rabtjen geboren.

Seine gymnasiale Ausbildung erhielt er auf den Schulen zu Geestemünde und Bremerhaven. Oktober 1890 verliess er das Bremerhavener Gymnasium mit dem Reifezeugnis für Prima und Ostern 1894 erhielt er als Extraneer am Gymnasium zu Bremen das Zeugnis der Reife.

Er besuchte die Universitäten zu Heidelberg und München, machte eine einjährige Reise in den Golf von Mexiko und studierte darauf in Marburg, Göttingen und Leipzig. Während seiner Studienzeit hörte er die Vorlesungen folgender Herren Dozenten: Rüdinger, R. Hertwig, v. Voit, v. Bayer, Kossel, Zincke, Ehlers, Peter, Riecke, Chun.

Vom Winter 1900 bis Herbst 1902 hielt er sich grösstenteils in den Vereinigten Staaten von Amerika auf, wo er an der Staatsuniversität Californias zu San Francisco bakteriologisch arbeitete. Von November 1902 bis August 1903 beschäftigte er sich in dem Bakteriologischen Institut von Dr. Piorkowski-Berlin, wo er auch die Untersuchungen anstellte, die die Grundlage der vorstehenden Dissertation bilden.


192241
QR82
S8R3
BIOLOGY
LIBRARY
G
THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY

